

(19) BUNDESREPUBLIK

DEUTSCHLAND



DEUTSCHES

PATENTAMT

Offenlegungsschrift

(10) DE 195 42 986 A 1

(51) Int. Cl. 6:

C 07 D 493/08

C 07 D 493/18

C 07 D 417/06

C 07 D 497/08

C 07 F 7/07

A 01 N 43/90

C 07 F 9/655

A 61 K 31/425

// (C07D 493/08,303:00,315:00) (C07D 493/18,303:00,315:00,321:00) (C07D 497/08,303:00,315:00,327:00)
(C07D 417/06,277:24, 303:12) (C07D 417/06,277:24,315:00)

(71) Anmelder:

Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH
(GBF), 38124 Braunschweig, DE

(74) Vertreter:

Patentanwälte Dr. Boeters, Bauer, Dr. Meyer, 81541
München

(72) Erfinder:

Höfle, Gerhard, Prof. Dr., 38124 Braunschweig, DE;
Kiffe, Michael, Dr., 38124 Braunschweig, DE

(54) Epothilon-Derivate und deren Verwendung

(57) Die vorliegende Erfindung betrifft EpothilonDerivate und
deren Verwendung.

DE 195 42 986 A 1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

BUNDESDRUCKEREI 03.97 702 021/284

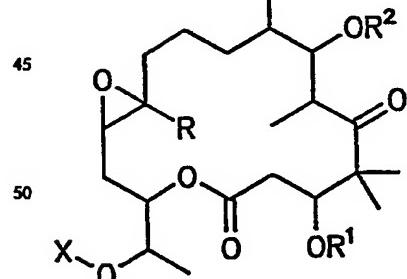
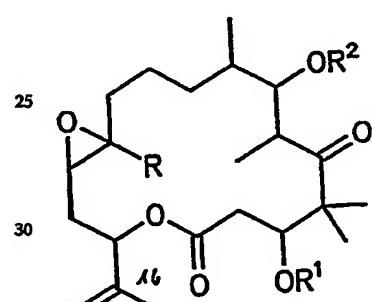
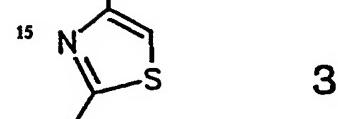
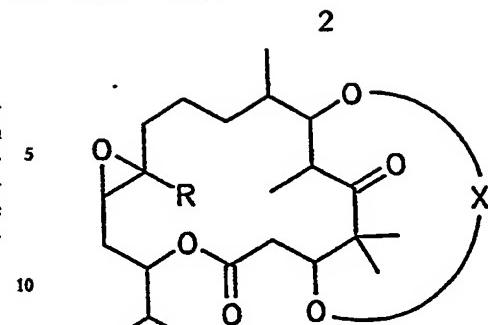
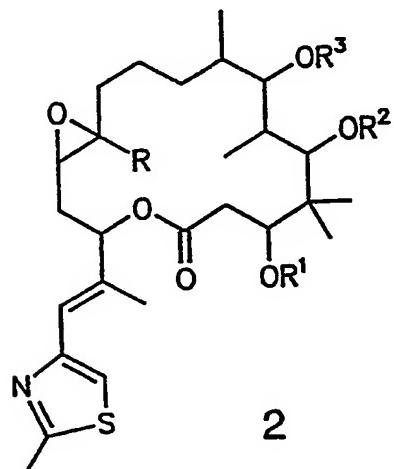
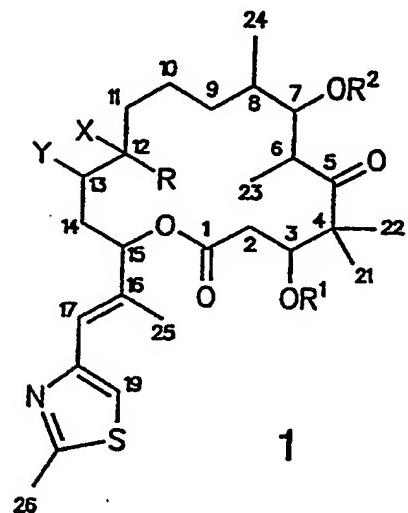
12/29

DE 195 42 986 A 1

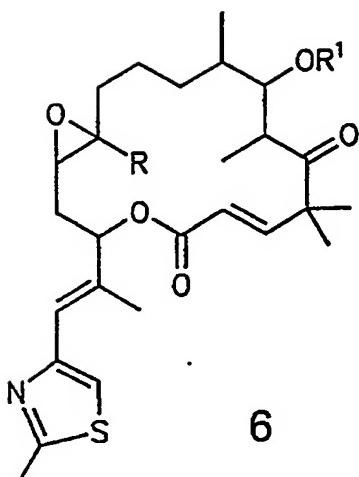
BEST AVAILABLE COPY

1
Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft allgemein Epothilonederivate und deren Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln. Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung die Herstellung der Epothilonederivate der nachfolgend dargestellten allgemeinen Formeln 1 bis 7 sowie deren Verwendung zur Herstellung von therapeutischen Mitteln und Mitteln für den Pflanzenschutz.



BEST AVAILABLE COPY



serstoffsäuren in einem bevorzugt nicht wäßrigen Lösungsmittel eingesetzt, wobei man die Halogenhydrine X = Hal, Y = OH und Y = OH, Y = Hal erhält.

- 5 Protonensäuren wie z. B. Toluolsulfonsäure und Tri-
fluoresigsäure führen in Gegenwart von Wasser zu
12,13-Diolen, die anschließend nach Standardverfahren
acyliert (z. B. mit Carbonsäureanhydriden und Pyridin oder Triethylamin/DMAP) oder alkyliert (Alkylhalogenide und Silberoxid) werden. Die 3- und 7-Hydroxy-
10 Gruppen können dazu vorübergehend als Formiat (Abspaltung mit NH₃/MeOH) oder p-Methoxybenzylether (Abspaltung mit DDQ) geschützt werden.

- Verbindungen gemäß der allgemeinen Formel 2 sind
15 aus Epothilon A und B sowie deren 3-O- und/oder
7-O-geschützten Derivaten durch Reduktion, z. B. mit
NaBH₄ in Methanol erhältlich. Sind dabei 3-OH und/oder
7-OH reversibel geschützt, so können nach Acylierung
20 oder Alkylierung und Entfernen der Schutzgruppen
5-O-monosubstituierte, 3,5- oder 5,7-O-disubstituierte
Derivate der allgemeinen Formel 2 erhalten werden.

- Umsetzungen von Epothilon A und B mit bifunktionalen elektrophilen Reagenzien, wie (Thio)Phosgen, (Thio)Carbonyldimidazol, Thionylchlorid oder Dialkylsilyldichloriden bzw. -bistriflaten ergeben Verbindungen der allgemeinen Formel 3. Als Hilfsbasen dienen dabei Pyridin, Trialkylamine, ggf. zusammen mit DMAP bzw. 2,6-Lutidin in einem nichtprotischen Lösungsmittel. Die 3,7-Acetale der allgemeinen Formel 3 entstehen durch Umacetalisierung z. B. von Dimethylacetalen in Gegenwart eines sauren Katalysators.

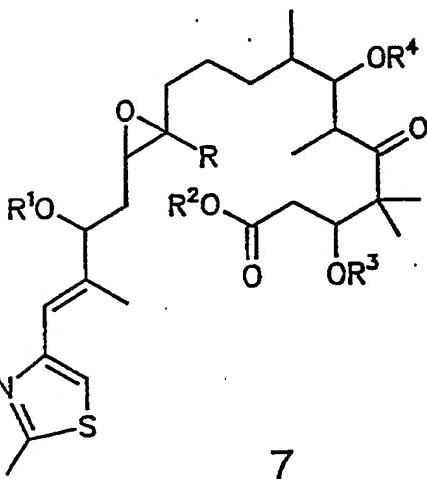
- Verbindungen gemäß der allgemeinen Formel 4 werden aus Epothilon A und B oder ihren 3-O- und/oder 7-O-geschützten Derivaten durch Ozonolyse und reduktive Aufarbeitung, z. B. mit Dimethylsulfid, erhalten. Die C-16-Ketone können anschließend nach dem Fiehn geläufigen Standardverfahren in Oxime, Hydrazone oder Semicarbazone umgewandelt werden. Sie werden weiterhin durch Wittig-, Wittig-Horner-, Julia- oder Petersen-Olefinition in C-16/C-17-Olefine überführt.

- Durch Reduktion der C-16-Ketogruppe, z. B. mit einem Aluminium- oder Borhydrid, sind die 16-Hydroxyderivate gemäß der allgemeinen Formel 5 erhältlich. Diese können, wenn 3-OH und 7-OH mit entsprechenden Schutzgruppen versehen sind, selektiv acyliert oder alkyliert werden. Die Freisetzung der 3-OH- und 7-OH-Gruppen erfolgt z. B. bei O-Formyl durch NH₃/MeOH, bei O-p-Methoxybenzyl durch DDQ.

- Die Verbindungen der allgemeinen Formel 6 werden aus Derivaten von Epothilon A und B erhalten, bei denen die 7-OH-Gruppe durch Acyl- oder Ethergruppen geschützt ist, in dem die 3-OH-Gruppe z. B. formyliert, mesyliert oder tosyliert und anschließend durch Behandlung mit einer Base z. B. DBU eliminiert wird. Die 7-OH-Gruppe kann wie oben beschrieben freigesetzt werden.

- Verbindungen der allgemeinen Formel 7 werden aus Epothilon A und B oder deren 3-OH- und 7-OH-geschützten Derivaten durch basische Hydrolyse erhalten, z. B. mit NaOH in MeOH. Die Carboxylgruppe kann mit Diazoalkanen nach Schutz der 19-OH-Gruppe durch Alkylierung in Ester umgewandelt werden.

- Die Erfindung betrifft ferner Mittel für den Pflanzenschutz in Landwirtschaft, Forstwirtschaft und/oder Gartenbau, bestehend aus einer oder mehreren der vorstehend aufgeführten Epothilonderivate bzw. bestehend aus einem oder mehreren der vorstehend aufgeführten



In den vorstehenden Formeln 1 bis 7 bedeuten:

R = H, C₁- bis C₄-Alkyl;
R¹, R², R³, R⁴, R⁵ = H, C₁- bis C₆-Alkyl, C₁- bis C₆-Acyl, Benzoyl, C₁- bis C₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C₁- bis C₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und Halogen-substituiertes Benzyl bzw. Phenyl;

wobei auch zwei der Reste R¹ bis R⁵ zu der Gruppierung -(CH₂)_n- mit n = 1 bis 6 zusammentreten können und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um gradkettige oder verzweigte Reste handelt.

In der Formel 1 sind X und Y entweder gleich oder verschieden und stehen jeweils für Halogen, OH, O-(C₁- bis C₆-Acyl, O-(C₁- bis C₆-Alkyl, O-Benzoyl.

In der Formel 3 steht X allgemein für -C(O)-, -C(S)-, -S(O)-, -CR¹R²-, wobei R¹ und R² die Bedeutung haben wie oben angegeben, und -SiR₂, wobei R die Bedeutung hat wie oben angegeben.

In der Formel 4 bedeutet X Sauerstoff, NOR³, N-NR⁴R⁵, und N-NHCOR⁴R⁵, wobei die Reste R³ bis R⁵ die oben angegebene Bedeutung haben.

In der Formel 5 bedeutet X Wasserstoff, C₁- bis C₁₈-Alkyl, C₁- bis C₁₈-Acyl, Benzyl, Benzoyl und Cinnamoyl.

Verbindungen gemäß der allgemeinen Formel 1 sind ausgehend von Epothilon A und B sowie von deren 3-O- und/oder 7-O-geschützten Derivaten durch Öffnung des 12,13-Epoxids zugänglich. Werden dazu Hydrogenwas-

Epothilonederivate neben einem oder mehreren üblichen Träger(n) und/oder Verdünnungsmittel(n).

Schließlich betrifft die Erfindung therapeutische Mittel, bestehend aus einer oder mehreren der vorstehend aufgeführten Verbindungen oder einer oder mehreren der vorstehend aufgeführten Verbindungen neben einem oder mehreren üblichen Träger(n) und/oder Verdünnungsmittel(n). Diese Mittel können insbesondere cytotoxische Aktivitäten entwickeln und/oder Immunsuppression bewirken, so daß sie besonders bevorzugt als Cytostatika verwendbar sind.

Die Erfindung wird im folgenden durch die Beschreibung von einigen ausgewählten Ausführungsbeispielen näher erläutert und beschrieben.

gung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol, 90 : 10). Ausbeute: 19 mg (32%).

⁵ Rf (Dichlormethan/Methanol, 90 : 10): 0.46.
IR (Film): ν = 3441 (s, br, Sch), 2948 (s, Sch), 1725 (vs, Sch), 1462 (m), 1381 (w), 1265 (m), 1154 (w), 972 (m, br, Sch) cm^{-1} .

¹⁰ Uv (Methanol): λ_{max} (lg E) = 210 (4.29), 248 (4.11) nm.
MS (20/70 ev): m/e (%) = 529 (13 [M⁺]), 494 (10), 342 (38), 306 (23), 194 (32), 164 (100), 140 (31), 113 (15), 57 (16).
Hochauflösung: $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{O}_6\text{CINS}$
ber.: 529.2265 für [M⁺]
¹⁵ gef.: 529.2280

Beispiele

Verbindung 1a

20 mg (0.041 mmol) Epothilon A werden in 1 ml Aceton gelöst, mit 50 μl (0.649 mmol) Trifluoressigsäure versetzt und über Nacht bei 50°C gerührt zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schicht-chromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 85 : 15).
Ausbeute: 4 mg (19%) Isomer I; 4 mg (19%) Isomer II

Isomer I:

Rf (Dichlormethan/Aceton, 85 : 15): 0.46
IR (Film): ν = 3440 (m, b, Sch), 2946 (s, gch), 1734 (vs), 1686 (m), 1456 (m), 1375 (w), 1256 (s, Sch), 1190 (w, b, Sch), 1071 (m, Sch), 884 (w), 735 (w) cm^{-1} .
MS (20/70 ev): m/e (%) = 493 (43 [M-H₂O]⁺), 394 (47), 306 (32), 206 (30), 181 (40), 166 (72), 139 (100), 113 (19), 71 (19), 57 (24), 43 (24).
Hochauflösung: $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{O}_6\text{NS}$
ber.: 493.2498 für [M-H₂O]⁺
gef.: 493.2478

Isomer II:

Rf (Dichlormethan/Aceton 85 : 15): 0.22.
IR (Film): ν = 3484 (s, b, Sch), 2942 (vs, Sch), 1727 (vs), 1570 (w), 1456 (m), 1380 (m), 1265 (s), 1190 (w), 1069 (m), 975 (w) cm^{-1} .
MS (20/70 ev): m/e (%) = 493 (21 [M-H₂O]⁺), 394 (12), 306 (46), 206 (37), 181 (63), 166 (99), 139 (100), 113 (21), 71 (23), 57 (33), 43 (28).
Hochauflösung: $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{O}_6\text{NS}$
ber.: 493.2498 für [M-H₂O]⁺
gef.: 493.2475

Verbindung 1b

55 mg (0.111 mmol) Epothilon A werden in 0.5 ml Tetrahydrofuran gelöst, mit 0.5 ml 1 N Salzsäure versetzt und 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird mit 1 N Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reini-

Verbindung 1c

25 mg (0.047 mmol) 12-Chlor-13-hydroxy-epothilon A (1b) werden in 1 ml Dichlormethan gelöst, mit 29 mg (0.235 mmol) Dimethylaminopyridin, 151 μl (1.081 mmol) Triethylamin und 20 μl (0.517 mmol) 98%iger Ameisensäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wird mit Eis/Natriumchlorid abgekühlt. Nach Erreichen von -15°C werden dem Reaktionsgemisch 40 μl (0.423 mmol) Essigsäureanhydrid zugegeben und 70 Minuten bei -15°C gerührt. Nach dem ein Dünnschichtchromatogramm keinen vollständigen Umsatz anzeigt, werden dem Reaktionsgemisch weitere 6 mg (0.047 mmol) Di-methylaminopyridin, 7 μl (0.047 mmol) Triethylamin, 2 μl 98%ige Ameisensäure (0.047 mmol) und 4 μl (0.047 mmol) Essigsäureanhydrid zugesetzt und 60 Minuten gerührt.

Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt, mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit.

Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 90 : 10).
Ausbeute 1c: 5 mg (18%).

⁴⁵

Verbindung 1c

Rf (Dichlormethan/Aceton 90 : 10): 0.67.
IR (Film): ν = 3497 (w, b, Sch), 2940 (s, b, Sch), 1725 (vs), 1468 (m, b, Sch), 1379 (m), 1265 (s), 1253 (s), 1175 (vs), 972 (m, b, Sch), 737 (s) cm^{-1} .
MS (20/70 ev): m/e (%) = 613 (9 [M⁺]), 567 (43), 472 (63), 382 (23), 352 (21), 164 (100), 151 (33), 96 (31), 69 (17), 44 (26).
⁵⁵ Hochauflösung: $\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{O}_9\text{NSCl}$
ber.: 613.2112 für [M⁺]
gef.: 613.2131

⁶⁰

Verbindung 1d

10 mg (0.020 mmol) Epothilon 3 werden in 0.5 ml Tetrahydrofuran gelöst, mit 0.5 ml 1 N Salzsäure versetzt und 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reini-

gung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schicht-chromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 85 : 15).

Ausbeute: 1 mg (9%).

Rf (Dichlormethan/Aceton 85 : 15): 0.38.

MS (20/70 ev): m/e (%) = 543 (3 [M⁺]), 507 (14), 320 (19), 234 (9), 194 (17), 182 (23), 164 (100), 140 (22), 113 (14), 71 (13).

Hochauflösung: C₂₆H₄₂O₆NSCl

ber.: 543.2421 für [M⁺]

gef.: 543.2405

Verbindung 2a

100 mg (0.203 mmol) Epothilon A werden in 4 ml Tetrahydrofuran/1 M Phosphatpuffer pH 7 (1 : 1) gelöst und solange mit Natrium-borhydrid (150 mg 3.965 mmol) versetzt bis das Edukt laut Dünnschichtchromatogramm vollständig abreagiert ist. Anschließend wird mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 verdünnt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit.

Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt durch Kieselchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 95 : 5 — grad — nach Dichlormethan/Aceton, 85 : 15).

Ausbeute: (20%).

Rf (Dichlormethan/Aceton 75 : 25): 0.27.

IR (Film): v = 3413 (s, b, Sch), 2965 (vs, Sch), 1734 (vs), 1458 (m, b, Sch), 1383 (m, Sch), 1264 (s, b, Sch), 1184 (m, b, Sch), 1059 (s, Sch), 966 (s), 885 (w), 737 (m) cm⁻¹.
MS (20/70 ev): m/e (%) = 495 (6 [M⁺]), 477 (8), 452 (12), 394 (9), 364 (16), 306 (49), 194 (19), 178 (35), 164 (100), 140 (40), 83 (21), 55 (27).

Hochauflösung: C₂₆H₄₁O₆NS

ber.: 495.2655 für [M⁺]

gef.: 495.2623

Verbindung 3a—d (a—d sind Stereoisomere)

100 mg (0.203 mmol) Epothilon werden in 3 ml Pyridin gelöst, mit 50 μ (0.686 mmol) Thionylchlorid versetzt und 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes und Trennung der vier Stereoisomeren 3a—d erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Toluol/Methanol, 90 : 10).

Verbindung 3a

Ausbeute: 4 mg (12%).

Rf (Toluol/Methanol 90 : 10): 0.50.

IR (Film): v = 2961 (m, b, Sch), 1742 (vs), 1701 (vs), 1465 (m, Sch), 1389 (m, Sch), 1238 (s, Sch), 1210 (vs, Sch), 1011 (s, Sch), 957 (s, b, Sch), 808 (m, Sch), 768 (s, Sch) cm⁻¹.

Uv (Methanol): λ_{max} (lg ε) = 210 (4.50), 248 (4.35) nm.

MS (20/70 ev): m/e (%) = 539 (40 [M⁺]), 457 (22), 362 (16), 316 (27), 222 (30), 178 (30), 164 (100), 151 (43), 96 (38), 69 (29), 55 (28), 43 (20).

Hochauflösung: C₂₆H₃₇O₇NS₂

ber.: 539.2011 für [M⁺]

Verbindung 3b

Ausbeute: 14 mg (13%).

Rf (Toluol/Methanol 90 : 10): 0.44.

IR (Film): v = 2963 (s, br, Sch), 1740 (vs), 1703 (s), 1510 (w), 1464 (m, br, Sch), 1389 (m, Sch), 1240 (s, br, Sch), 1142 (m), 1076 (w), 1037 (w), 1003 (m), 945 (s, br, Sch), 806 (m, Sch), 775 (s), 737 (m) cm⁻¹.

Uv (Methanol): λ_{max} (lg ε) = 211 (4.16), 250 (4.08) nm.

MS (20/70 ev): m/e (%) = 539 (27 [M⁺]), 475 (17), 322 (41), 306 (67), 222 (16), 206 (17), 194 (19), 178 (32), 164 (100), 151 (33), 125 (18), 113 (15), 96 (39), 81 (23), 64 (58), 57 (42), 41 (19).

Hochauflösung: C₂₆H₃₇O₇NS₂

ber.: 539.2011 für [M⁺]

gef.: 539.1998

Verbindung 3c

Ausbeute: 4 mg (4%).

Rf (Toluol/Methanol 90 : 10): 0.38.

MS (20/70 ev): m/e (%) = 539 (51 [M⁺]), 322 (22), 306 (53), 222 (36), 178 (31), 164 (100), 151 (41), 96 (25), 81 (20), 69 (26), 55 (25), 41 (25).

Hochauflösung: C₂₆H₃₇O₇NS₂

ber.: 539.2011 für [M⁺]

gef.: 539.2001

Verbindung 3d

Ausbeute: 1 mg (1%).

Rf (Toluol/Methanol 90 : 10): 0.33.

MS (20/70 ev): m/e (%) = 539 (69 [M⁺]), 322 (35), 306 (51), 222 (41), 178 (31), 164 (100), 151 (46), 96 (31), 81 (26), 69 (34), 55 (33), 41 (35).

Hochauflösung: C₂₆H₃₇O₇NS₂

ber.: 539.2011 für [M⁺]

gef.: 539.1997

Verbindung 4a

10 mg (0.020 mmol) Epothilon A werden in 2 ml Dichlormethan gelöst, auf -70°C abgekühlt und anschließend 5 Minuten mit Ozon bis zur schwachen Blaufärbung behandelt. Das resultierende Reaktionsgemisch wird anschließend mit 0.5 ml Dimethylsulfid versetzt und auf Raumtemperatur erwärmt. Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch vom Lösungsmittel befreit und schließlich durch präparative Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton/Methanol, 85 : 10 : 5) gereinigt. Ausbeute: 5 mg (64%).

Rf (Dichlormethan/Aceton/Methanol 85 : 10 : 5): 0.61.

IR (Film): v = 3468 (s, br, Sch), 2947 (s, br, Sch), 1734 (vs, Sch), 1458 (w), 1380 (w), 1267 (w), 1157 (w), 1080 (w), 982 (w) cm⁻¹.

Uv (Methanol): λ_{max} (lg ε) = 202 (3.53) nm.

MS (20/70 ev): m/e (%) = 398 (2 [M⁺]), 380 (4), 267 (14),

9

249 (17), 211 (20), 193 (26), 171 (34), 139 (34), 111 (40), 96 (100), 71 (48), 43 (50).
 Hochauflösung: $C_{21}H_{34}O_7$,
 ber.: 398.2305 für $[M^+]$
 gef.: 398.2295

Verbindung 6a

10 mg (0.018 mmol) 3,7-Di-O-formyl-epothilon A werden in 1 ml Di-chlormethan gelöst, mit 27 μ l (0.180 mmol) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) versetzt und 60 Minuten bei Raumtemperatur gerührt.

Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M Natriumdihydrogenphosphat-Puffer pH 4.5 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit.

Nach Beseitigung des Lösungsmittel wird das resultierende Rohprodukt in 1 ml Methanol gelöst, mit 200 μ l einer ammoniakalischen Methanolösung (2 mmol NH₃/ml Methanol) versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 4 mg (22%).

Rf (Dichlormethan/Aceton 85 : 15): 0.46.
 IR (Film): ν = 3445 (w, br, Sch), 2950 (vs, br, Sch), 1717 (vs, Sch), 1644 (w), 1466 (m, Sch), 1370 (m, Sch), 1267 (s, br, Sch), 1179 (s, Sch), 984 (s, Sch), 860 (w), 733 (m) cm⁻¹.
 Uv (Methanol): λ_{max} (lg ϵ) = 210 (4.33) nm.
 MS (20/70 ev): m/e (%) = 475 (28 [M $^+$]), 380 (21), 322 (37), 318 (40), 304 (66), 178 (31), 166 (100), 151 (29), 140 (19), 96 (38), 81 (20), 57 (26).
 Hochauflösung: $C_{28}H_{37}O_5NS$
 ber.: 475.2392 für $[M^+]$
 gef.: 475.2384

Verbindung 6b

50 mg (0.091 mmol) 3,7-Di-O-formyl-epothilon A (werden in 1 ml Dichlorethan gelöst, mit 2 ml (0.013 mol) 1,8-Diazabicyclo-[5.4.0]undec-7-en (DBU) versetzt und 12 Stunden bei 90°C gerührt.

Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M Natriumdihydrogenphosphat-Puffer pH 4.5 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit.

Die Reinigung des aus zwei Verbindungen bestehenden Rohproduktes erfolgt mittels präparativer Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 90:10).

Ausbeute: 7 mg (15%).
 Substanzcode

Rf (Dichlormethan/Aceton 90 : 10): 0.62.
 IR (Film): ν = 2951 (m, br, Sch), 1723 (vs), 1644 (w, br, Sch), 1468 (w), 1377 (w), 1271 (m, br, Sch), 1179 (s), 987 (m, br, Sch), 735 (w, br, Sch) cm⁻¹.
 Uv (Methanol): λ_{max} (lg ϵ) = 210 (4.44) nm.
 MS (20/70 ev): m/e (%) = 503 (68 [M $^+$]), 408 (58), 390 (32), 334 (25), 316 (34), 220 (21), 206 (27), 194 (20), 181 (33),

10

164 (100), 151 (34), 139 (28), 113 (20), 96 (82), 81 (33), 67 (24), 55 (26), 43 (22).
 Hochauflösung: $C_{27}H_{37}O_6NS$
 ber.: 503.2342 für $[M^+]$
 gef.: 503.2303

Verbindung 6c

5 mg (0.009 mmol) 3,7-Di-O-acetyl-epothilon werden in 1 ml Methanol gelöst, mit 150 μ l einer ammoniakalischen Methanolösung (2 mmol NH₃/ml Methanol) versetzt und über Nacht bei 50°C gerührt.

Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Toluol/Methanol, 90 : 10).

Ausbeute: 3 mg (67%).

20 Rf (Dichlormethan/Aceton 90 : 10): 0.55.
 IR (Film): ν = 2934 (s, b, Sch), 1719 (vs, b, Sch), 1641 (m), 1460 (m, Sch), 1372 (s, Sch), 1237 (vs, b, Sch), 1179 (s, Sch), 1020 (s), 963 (s, Sch), 737 (vs) cm⁻¹.
 Uv (Methanol): λ_{max} (lg ϵ) = 210 (4.33) nm.
 25 MS (20/70 ev): m/e (%) = 517 (57 [M $^+$]), 422 (58), 318 (31), 194 (20), 181 (34), 166 (100), 151 (31), 96 (96), 81 (32), 69 (27), 55 (29), 43 (69).
 Hochauflösung: $C_{28}H_{39}O_6NS$
 ber.: 517.2498 für $[M^+]$
 gef.: 517.2492

Verbindung 7a

20 mg (0.041 mmol) Epothilon werden in 0.5 ml Methanol gelöst, mit 0.5 ml 1 N Natronlauge versetzt und 5 Minuten bei Raumtemperatur gerührt.

Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol, 85 : 15).

Ausbeute: 11 mg (52%).

50 Rf (Dichlormethan/Methanol 85 : 15): 0.92.
 IR (Film): ν = 3438 (s, br, Sch), 2971 (vs, br, Sch), 1703 (vs), 1507 (m), 1460 (s, Sch), 1383 (m, Sch), 1254 (w), 1190 (w, br, Sch), 1011 (w, br, Sch), 866 (w, br), 729 (s) cm⁻¹.
 MS (20/70 ev): m/e (%) = 423 (0.1 [M $^+$]), 323 (4), 168 (89), 140 (100), 85 (31), 57 (67).
 55 Hochauflösung: $C_{23}H_{37}O_4NS$
 ber.: 423.2443 für $[M^+]$
 gef.: 423.2410

Verbindung 7b

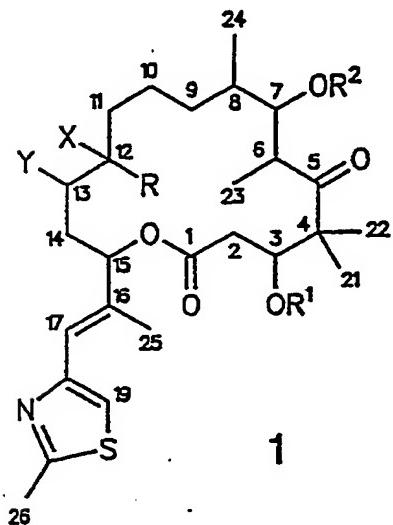
60 5 mg (0.009 mmol) 7-O-Acetyl-epothilon werden in 1 ml Methanol gelöst, mit 200 μ l einer ammoniakalischen Methanolösung (2 mmol NH₃/ml Methanol) versetzt und zwei Tage bei 50°C gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Toluol/Methanol, 90 : 10).

Ausbeute: 3 mg (59%).

Rf (Dichlormethan/Methanol 90 : 10): 0.63.
 IR (Film): ν = 3441 (m, b, Sch), 2946 (s, Sch), 1732 (vs),
 1600 (w), 1451 (m), 1375 (m), 1246 (s, b, Sch), 1013 (m, b,
 Sch) cm^{-1} .
 UV (Methanol): λ_{max} (lg ϵ) = 211 (3.75), 247 (3.59) nm.
 MS (20/70 ev): m/e (%) = 567 (1 [M $^+$]), 465 (4), 422 (7),
 388 (5), 194 (5), 182 (7), 168 (65), 164 (17), 140 (100), 97
 (10), 71 (22), 43 (27).
 Hochauflösung: C₂₉H₄₅O₈NS
 ber.: 567.2866 für [M $^+$]
 gef.: 567.2849

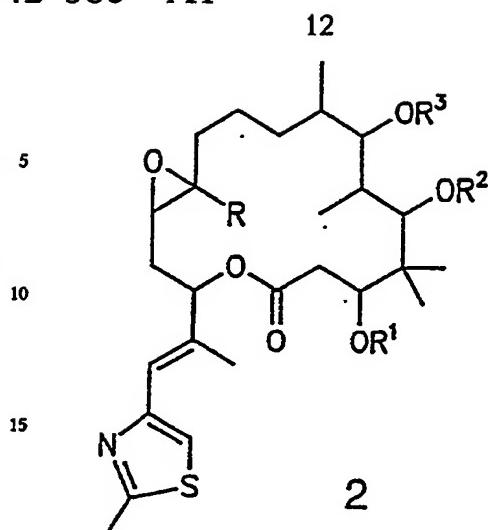
Patentansprüche

1. Epothilonderivat der Formel 1



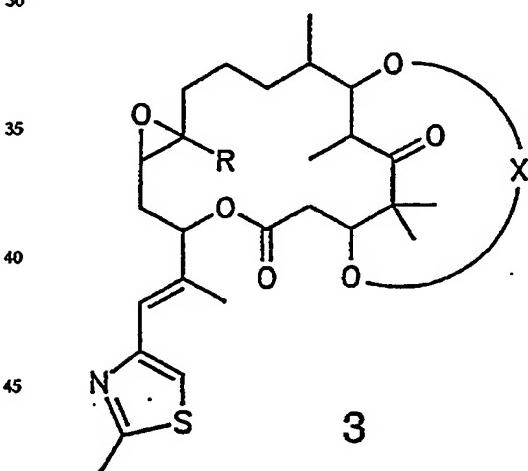
wobei R = H, C₁- bis C₄-Alkyl; R¹, R² = H, C₁- bis C₆-Alkyl, C₁- bis C₆-Acyl-Benzoyl, C₁- bis C₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C₁- bis C₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradketige oder verzweigte Reste handelt, und X und Y entweder gleich oder verschieden sind und jeweils für Halogen, OH, O-(C₁- bis C₆)-Acyl, O-(C₁- bis C₆)-Alkyl, O-Benzoyl stehen.

2. Epothilonderivat der Formel 2



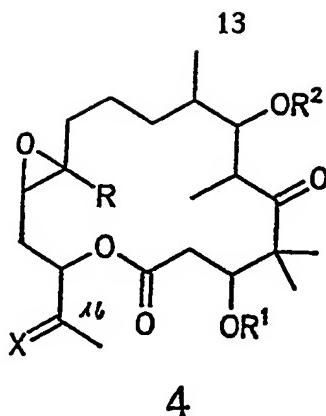
wobei R = H, C₁- bis C₄-Alkyl; R¹, R², R³ = H, C₁- bis C₆-Alkyl, C₁- bis C₆-Acyl-Benzoyl, C₁- bis C₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C₁- bis C₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradketige oder verzweigte Reste handelt.

3. Epothilonderivat der Formel 3



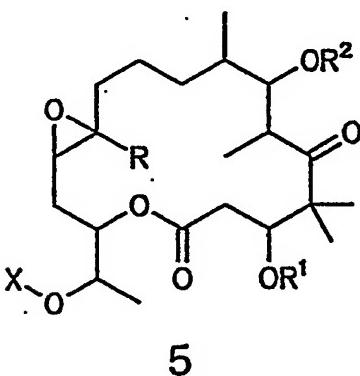
wobei R = H, C₁- bis C₄-Alkyl; R¹, R² = H, C₁- bis C₆-Alkyl, C₁- bis C₆-Acyl-Benzoyl, C₁- bis C₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C₁- bis C₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradketige oder verzweigte Reste handelt, und X allgemein für -C(O)-, -C(S)-, -S(O)-, -CR¹R²- und -SiR₂- steht, wobei R, R¹ und R² die Bedeutung hat wie oben angegeben.

4. Epothilonderivat der Formel 4



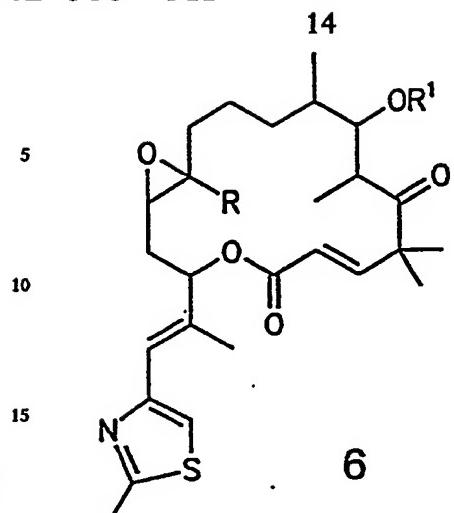
wobei R = H, C₁- bis C₄-Alkyl; R¹, R² = H, C₁- bis C₆-Alkyl, C₁- bis C₆-Acyl-Benzoyl, C₁- bis C₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C₁- bis C₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradketige oder verzweigte Reste handelt, X Sauerstoff, NOR³, N—NR⁴R⁵, und N—NHCONR⁴R⁵ bedeutet, wobei die Reste R³ bis R⁵ die oben angegebene Bedeutung haben.

5. Epothilonederivat der Formel 5



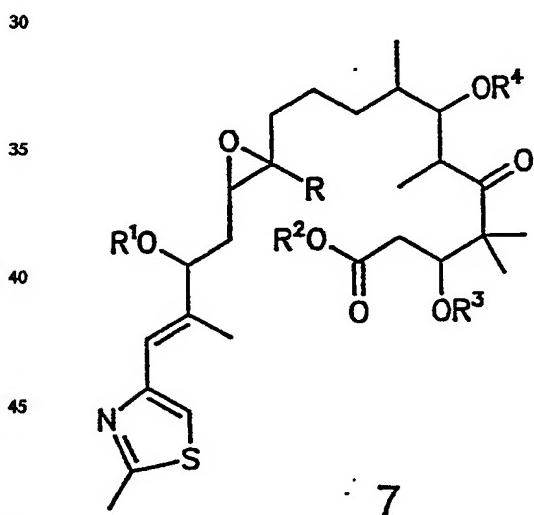
wobei R = H, C₁- bis C₄-Alkyl; R¹, R² = H, C₁- bis C₆-Alkyl, C₁- bis C₆-Acyl-Benzoyl, C₁- bis C₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C₁- bis C₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradketige oder verzweigte Reste handelt, und X Wasserstoff, C₁- bis C₁₈-Alkyl, C₁- bis C₁₈-Acyl, Benzyl, Benzoyl und Cinnamoyl bedeutet.

6. Epothilonederivat der Formel 6



wobei R = H, C₁- bis C₄-Alkyl und R¹ = H, C₁- bis C₆-Alkyl, C₁- bis C₆-Acyl-Benzoyl, C₁- bis C₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C₁- bis C₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl ist, und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradketige oder verzweigte Reste handelt.

7. Epothilonederivat der Formel 7



wobei R = H, C₁- bis C₄-Alkyl und R¹, R² = H, C₁- bis C₆-Alkyl, C₁- bis C₆-Acyl-Benzoyl, C₁- bis C₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl, C₁- bis C₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und Halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradketige oder verzweigte Reste handelt.

8. Mittel für den Pflanzenschutz in der Landwirtschaft und Forstwirtschaft und/oder im Gartenbau, bestehend aus einem oder mehreren der Verbindungen gemäß einem der vorangehenden Ansprüche oder einer oder mehreren dieser Verbindungen neben einem oder mehreren üblichen Träger(n) und/oder Verdünnungsmittel(n).

9. Therapeutisches Mittel, insbesondere zum Einsatz als Cytostatikum, bestehend aus einer oder mehreren der Verbindungen nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7 oder einer oder mehreren

rer der Verbindungen nach einem oder mehreren
der Ansprüche 1 bis 7 neben einem oder mehreren
üblichen Träger(n) und/oder Verdünnungsmittel
(n).

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

BEST AVAILABLE COPY

- Leerseite -

BEST AVAILABLE COPY